

网络出版时间: 2018-3-29 14:00 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1073.R.20180329.1400.001.html>

• 免疫组化专家共识 •

泌尿及男性生殖系统肿瘤病理诊断免疫组化标志物选择专家共识

贺慧颖, 饶秋, 赵明, 滕晓东 整理

关键词: 泌尿男性生殖系统肿瘤; 免疫标志物; 诊断; 鉴别诊断

中图分类号: R 737.1; R 737.2 文献标志码: A

文章编号: 1001-7399(2018)03-0237-07

doi: 10.13315/j.cnki.cjcep.2018.03.001

泌尿男性生殖系统肿瘤包含肾、膀胱、前列腺、睾丸等主要器官的肿瘤。2016年WHO出版了相关肿瘤的新分类^[1]。近年来,该系统的肿瘤发病率在我国呈明显上升趋势。尽管该系统大部分肿瘤可根据镜下形态结合临床特点做出诊断,但仍有部分肿瘤需进行免疫组化标记以判断具体的组织学类型,并做出正确的诊断^[2]。本共识简要总结免疫组化在肾肿瘤、膀胱肿瘤、前列腺肿瘤和睾丸肿瘤中的应用和注意事项。

1 肾肿瘤诊断和鉴别诊断的免疫组化标志物

1.1 有助于判断肾来源的免疫组化标志物 大多数肾肿瘤为恶性,其中肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)最常见。RCC常发生血行转移,并且可以转移至一些罕见部位,如头皮、腹壁、口唇等。加之转移性RCC的形态变化很大,因此肾来源的标志物在转移癌的鉴别诊断中很重要。其中最常用的是PAX8。

PAX8是一个由415个氨基酸组成的转录因子,在肾的发育和功能中起重要作用,是国际泌尿病理协会(ISUP)推荐应用于肾上皮性肿瘤诊断最有用的标志物之一^[3]。PAX8表达于几乎所有的RCC,包括原发性RCC和转移性RCC。在实际工作中需要注意的是:(1)PAX8在正常肾小管较好表达,可作为阳性内对照;(2)PAX8偶尔可以表达于肾盂的尿路黏膜;(3)约20%的上尿路高级别尿路上皮癌(urothelial carcinoma, UC)可有局灶或弥漫PAX8表达;(4)PAX8也表达于女性下生殖系统和甲状腺。

同源的另一个肾小管上皮标志物PAX2可以作为二线抗体应用,但敏感性较低。其他类似的肾上皮标志物如RC-Cma、CD10和Ksp-cadherin则特异性较低。

1.2 有助于原发性肾肿瘤分类的标志物 RCC的主要类型包括透明细胞RCC、乳头状RCC和嫌色性RCC,三种RCC占有RCC的90%以上。大多数RCC的组织学诊断可以在常规HE染色下做出,但对于疑难病例,当肿瘤形态不典型、组织学特征有重叠或是在活检标本时,免疫组化的应用对正确的组织学分型是必需的。RCC中有不少肿瘤类型都

可以具有透明细胞、嗜酸性细胞或乳头结构,给诊断带来困扰。下面分别叙述在这些鉴别诊断中可以应用的免疫组化标志物。

1.2.1 肾小管不同部位来源肿瘤的免疫组化标志物 肾小管不同部位的标志物在最常见的几种肾肿瘤鉴别中有一定的帮助。公认的近端小管标记包括CD10、RCCma和vimentin,表达于透明细胞RCC和乳头状RCC,而通常不表达于嫌色性RCC和嗜酸细胞瘤。需要注意得是,CD10在前两者中为细胞膜阳性,在后两者中一般为阴性,但偶尔会出现局灶胞质阳性。远端小管标记包括CD117和Ksp-cadherin,表达于嫌色性RCC和嗜酸细胞瘤,而透明细胞RCC和乳头状RCC为阴性。

1.2.2 具有透明细胞特征肾肿瘤诊断的免疫组化标志物 除了最常见的透明细胞RCC外,很多肾肿瘤都可以出现透明细胞,包括透明细胞RCC、乳头状RCC、嫌色性RCC、Mit家族易位性RCC和上皮样血管平滑肌脂肪瘤(angiomylipoma, AML)。推荐应用一组标志物:CA-IX、CK7、AMACR、CD117、TFE3/TFEB和HMB-45以及Melan-A进行鉴别诊断(表1)。

表1 具有透明胞质的肾肿瘤的免疫组化鉴别

标志物	透明细胞	透明细胞	嫌色性	MitF	易位性	上皮样
	RCC	乳头状RCC	RCC	RCC	RCC	AML
CA-IX	+(盒子状)	+(杯口状)	-	-/+	-	-
CK7	-/+	+	+	-	-	-
AMACR	-/+	-	-	-/+	-	-
CD117	-	-	+	-	-	-
TFE3/TFEB	-	-	-	+	-/少数TFE3+	-
HMB-45	-	-	-	+/-	+	-
CK(34βE12)	-	+	-	-	-	-
CD10	+	-/+局灶	-/胞质局灶+	+	-	-
Cathepsin K	-	-	-	+/-	-/+	-

透明细胞RCC通常CA-IX呈盒状的细胞膜弥漫阳性模式。CK7和AMACR通常阴性或局灶阳性,CK7阳性主要见于低级别、囊性变区域。低度恶性潜能的多房囊性透明细胞肾肿瘤依据形态学诊断,CA-IX阳性,并且CK7常弥漫阳性。

透明细胞乳头状RCC是WHO(2016版)泌尿系统分类中收录的新类型,部分与终末期肾疾病有关^[4]。这是一个组织学和免疫组化都具有特征性的RCC类型。组织学上肿瘤常位于囊腔内呈乳头状结构,也可呈管状或腺泡状结构。肿瘤细胞胞质透明,核低级别,远离基膜,相似于琴键或分泌早

期子宫内膜。免疫组化标记肿瘤细胞弥漫表达 CA-IX 呈杯口状阳性模式,即腔缘不着色,不同于透明细胞 RCC 的盒状阳性模式。该肿瘤通常 CD10 阴性或局灶阳性,CK7 弥漫阳性,AMACR 阴性,CK(34βE12) 阳性,部分病例还可表达 GA-TA3。需要注意的是少数透明细胞 RCC 具有和透明细胞乳头状 RCC 相重叠的形态学特征和免疫表型。

嫌色性 RCC 占 RCC 的 5%,其特征是细胞界限清晰,胞质多,核皱缩。有助于鉴别诊断的免疫组化标志物套餐包括 CA-IX、CD117 和 CK7。通常嫌色性 RCC 中 CK7 和 CD117 呈弥漫阳性,不表达 CA-IX。而透明细胞 RCC 和透明细胞乳头状 RCC 为 CD117 阴性。

MIT 家族易位性 RCC 是近年来研究较多的一类 RCC,其形态学谱系随着免疫组化和分子生物学技术的应用而不断拓宽和延伸^[5]。目前主要包括两类肿瘤: Xp11 易位性 RCC 和 t(6;11) 易位性 RCC。Xp11 易位性 RCC 具有 TFE3 基因易位,最独特的组织学特征是出现被覆透明细胞的乳头结构,表达 TFE3 蛋白。t(6;11) 易位性 RCC 具有 MALAT1-TFEB 基因融合,最常见的组织学特征是双相型形态,由周边体积大的上皮细胞,中心小的上皮样细胞和基膜物质相混合构成,表达 TFEB 蛋白。近年来发现这两类肿瘤的形态学可以重叠,可以相似于经典的透明细胞 RCC、乳头状 RCC 等肿瘤形态。TFE3 和 TFEB 是最敏感而特异地能将易位性 RCC 与其他类型 RCC 鉴别的免疫组化标志物。Cathepsin K 和 HMB-45、Melan-A 是 TFE3、TFEB 的下游正向调控指标。Cathepsin K 是近年来发现的提示易位性 RCC 的一个更敏感的标志物,表达于所有的 TFEB RCC、PRCC-TFE3 RCC、RBM10-TFE3 RCC、MED15-TFE3 RCC 和软组织 ASPS,但其表达情况取决于基因表型。部分易位性 RCC 可以表达黑色素标志物如 HMB45 和 Melan-A,而上皮性标志物如广谱角蛋白和 EMA 在易位性 RCC 中常低表达或丢失表达。对于易位性 RCC 的诊断,原则上应进一步行 TFE3 或 TFEB 的 FISH 检测以确诊。需要注意 FISH 检测并非 100% 特异,在一些少见情况下,如 TFE3 FISH 检测 X 染色体臂内易位时会出现假阴性;检测 NONO-TFE3 RCC 时会出现临界信号;检测 RBM10-TFE3 RCC 和 GRIPAPI-TFE3 RCC 时会出现完全阴性的信号,此时的诊断更依赖于形态及免疫组化的判读。

上皮样 AML 的肿瘤细胞呈多角形,具有颗粒性、致密的嗜酸性或透明胞质,有时也会与透明细胞 RCC 相混淆。其与透明细胞 RCC 不同的是,AML 不表达上皮标志物,同时 PAX8、CA-IX、CD10 和 AMACR 阴性,而表达黑色素标志物,包括 Melan-A、MiTF、HMB-45 和 Mart-1,以及平滑肌标记 SMA。需要注意的是黑色素标志物可以弥漫或仅有局灶阳性,因此应至少选择 ≥2 种标志物进行诊断。绝大多数 AML 的 TFE3 和 TFEB 完全阴性,也可以和易位性 RCC 鉴别。

1.2.3 嗜酸性肾肿瘤诊断的免疫组化标志物 许多肾肿瘤都可以表现出不同程度的嗜酸性胞质,组织形态多样。对嗜酸性肾肿瘤的进一步分型是肾肿瘤诊断的难点。包括具有低级别核的一组嗜酸性肿瘤:嗜酸细胞亚型的嫌色性 RCC、

嗜酸细胞瘤、嗜酸性实体型乳头状 RCC 和 SDH 缺陷型 RCC (表 2) 以及具有高级别核的一组嗜酸性肿瘤:透明细胞 RCC 的嗜酸性变型、II 型乳头状 RCC 和上皮样 AML(表 3)。可以应用一组抗体包括 CD117、CK7、CA-IX、AMACR、HMB-45 和 SDHB 进行鉴别诊断。

表 2 具有嗜酸性胞质的低级别肾肿瘤的免疫组化鉴别

标志物	嫌色性 RCC	嗜酸	嗜酸性乳	SDHB
	嗜酸细胞型	细胞瘤	头状 RCC	缺陷性 RCC
CD117	+	+	-	-
CK7	+	- / 散在局灶 +	局灶 +	-
AMACR	-	-	+	-
SDHB	+	+	+	-

表 3 具有嗜酸性胞质的高级别肾肿瘤的免疫组化鉴别

标志物	透明细胞	乳头状	上皮样
	RCC	RCC	AML
CK7	- / +	+ / -	-
CA-IX	+	-	-
AMACR	- / +	+	-
HMB45	-	-	+

对肾嗜酸细胞瘤和嗜酸细胞亚型嫌色性 RCC 的鉴别是泌尿男性生殖系统常规诊断中经常遇到的难题。尽管多年来人们尽力地寻找能够鉴别两者更好的标志物,但目前为止最可靠的标志物仍然是 CK7。绝大多数嫌色性 RCC 弥漫表达 CK7,以细胞膜为主;而嗜酸细胞瘤通常 CK7 阴性或仅散在少数细胞局灶阳性。胶样铁组织化学特染有一定价值,其在嫌色性 RCC 中呈弥漫深蓝色反应,在嗜酸细胞瘤中多为阴性,但有时在嗜酸细胞瘤也可呈弥漫浅蓝色反应或局灶深蓝色反应,从而影响结果的判读。并且这项特染技术受操作的影响较大,因此在常规工作中的应用受限。近年来另一个被证实有助于两者鉴别的免疫组化标志物是 S100A1。S100A1 是一种钙结合蛋白,为 S-100 家族成员之一。S100A1 在嗜酸细胞瘤中的阳性率约为 95%,而在嫌色性 RCC 中的阳性率较低。需要注意的是应选择单克隆抗体进行鉴别。杂合性嗜酸性细胞/嫌色细胞肾肿瘤(hybrid oncocytic/chromophobe tumor, HOCT)是与嗜酸细胞瘤和嫌色细胞癌组织学形态相重叠的新的嗜酸性肿瘤类别,目前在 WHO(2016 版)肾脏肿瘤分类中归在嫌色性 RCC 目录下,与嗜酸细胞瘤病和 Birt-Hogg-Dube(BHD) 综合征相关^[5]。在组织学上可见两种肿瘤形态混合或移行存在,以及散在分布的透明细胞,免疫表型上 CD117、CK7 灶状阳性,需结合临床以及必要时的 FLCN 胚系突变检测以助 BHD 综合征的诊断。

许多透明细胞 RCC 特别是高级别的肿瘤可以具有局灶或显著的嗜酸性颗粒性胞质,酷似嫌色性 RCC。区分两者最有价值的标志物是 CK7、CD117 和 CA-IX。嫌色性 RCC 通常 CK7 和 CD117 阳性,而 CA-IX 阴性。与之相反,透明细胞 RCC 通常 CK7 和 CD117 阴性,而 CA-IX 阳性。上皮性 AML 常常呈嗜酸性细胞形态,散在的脂肪细胞存在是有用的诊断

线索。免疫表型上黑色素标记如 HMB-45 和 Melan-A 阳性,平滑肌标记 SMA 阳性,肾小管标记 PAX8 阴性而有助于鉴别。

SDH 缺陷型 RCC 是 WHO(2016 版)肾肿瘤中的少见新类型,包括 SDHB、SDHC、SDHD 和 SDHA 缺陷型,其中 SDHB 缺陷型 RCC 最常见,后三种肿瘤罕见^[6]。SDH 各亚型的缺陷都会导致 SDHB 表达缺失,而 SDHA 表达缺失只代表 SDHA 亚基缺陷。SDHB 缺陷型 RCC 形态上与嗜酸细胞特征的肾肿瘤均有重叠,最显著的形态学特征是肿瘤细胞胞质丰富,轻度嗜酸性而不均匀,含有典型的胞质空泡或包涵体。肿瘤大部分为低核级,少部分为高核级。免疫组化标记肿瘤细胞 SDHB 阴性,而周围肾组织以及陷在肿瘤中的正常肾小管呈强的颗粒状胞质阳性。这种内对照的阳性对判断肿瘤的阴性表达非常重要。另外需要注意的是对于具有透明胞质的肿瘤,可能出现“非特异性”的胞质标志物阴性,包括 SDHB 阴性。此时需要在肿瘤多个区域全面评价。

1.2.4 乳头状肾肿瘤诊断及鉴别诊断的免疫组化标志物
除了乳头状 RCC 之外,乳头结构也可以见于透明细胞 RCC 伴假乳头状生长、透明细胞乳头状 RCC、MIT 家族易位性 RCC 以及少见的遗传性平滑肌瘤病和 RCC 综合征相关性 RCC(hereditary leiomyomatosis and RCC syndrome-associated RCC,HLRCC)。可以使用一组包括 CA-IX、CK7、CD10、AM-ACR、TFE3/TFEB、HMB-45 和 FH 在内的标志物进行鉴别^[7](表 4)。

表 4 具有明显乳头结构的肾肿瘤的免疫组化鉴别

标志物	乳头状 RCC	透明细胞 RCC 伴假乳头	透明细胞乳头状 RCC	MIT 家族易位性 RCC	HLRCC 综合征相关性 RCC
CA-IX	-	+(盒子状)	+(杯口状)	-/+	-
CK7	+ /2 型可 -	-	+	-	+
CD10	+	+	- /局灶 +	+	-
AMACR	+	- / +	-	- / +	+
TFE3/TFEB	-	-	-	+	-
HMB-45	-	-	-	+ / -	-
FH	+	+	+	+	-

AMACR 是乳头状 RCC 的敏感标记,呈弥漫的胞质颗粒状着色。CK7 在 I 型乳头状 RCC 中的敏感性要高于 II 型乳头状 RCC,呈细胞膜和胞质阳性。CD10 在乳头状 RCC 中常常阳性。透明细胞 RCC 有时由于细胞脱落形成假乳头结构,CA-IX 往往呈盒子状的细胞膜弥漫阳性,AMACR 可以有不同程度的阳性,而 CK7 通常阴性。MIT 家族易位性 RCC 容易出现明显的乳头结构,TFE3 或 TFEB 的抗体阳性具有高度特异性,可以进一步通过 TFE3 或 TFEB 的 FISH 检测确诊。HLRCC 是 WHO(2016 版)分类新增加的 RCC 罕见类型,常伴有皮肤或子宫的多发性平滑肌瘤或平滑肌肉瘤。相关的 RCC 多数由乳头状结构组成,瘤细胞具有丰富的嗜酸性胞质,明显突出的嗜酸性核仁以及核周空晕,类似于病毒包涵体。HLRCC 也可出现管状、管囊状和实性结构。由

于此种肿瘤进展迅速,患者预后差,因此对于形态学提示需要进行 FH 的免疫组化染色,肿瘤细胞阴性。最可靠的诊断标准是行 FH 基因突变检测。

1.2.5 一些少见肾肿瘤鉴别诊断的免疫组化标志物 (1) 密集小管状肾肿瘤鉴别诊断的免疫组化标志物:后肾腺瘤(metanephric adenoma,MA)是一种由原始的后肾肾小管细胞肿瘤性增生构成的罕见肾良性肿瘤。通常依靠常规 HE 切片即可诊断。当肿瘤富于细胞或形态学不典型时,需与上皮型肾母细胞瘤(epithelial-predominant Wilms tumor,e-WT)和实体型乳头状 RCC 鉴别,尤其是在有限的肾肿瘤穿刺标本中。MA 无包膜,细胞形态温和;e-WT 有包膜,往往异型性显著,细胞核多重叠,胞质少,核分裂象多见;实体型的乳头状 RCC 可见包膜,细胞异型性明显,胞质丰富,常有泡沫细胞。免疫组化上 MA 均表达 CD57,其定位于细胞膜或胞质,大部分表达 WT1。钙黏蛋白 17(Cadherin 17,CDH17)又称为肝肠钙黏蛋白,近年研究显示其是诊断 MA 高度敏感和特异的标志物,在其它的肾上皮性肿瘤中仅极个别阳性。此外新近研究证实约 90% 的 MA 存在 BRAF V600E 突变,检测这一特定位点突变的特异性抗体(VE1)有助于诊断,在 67% 的 MA 中 VE1 呈弥漫颗粒状胞质阳性,而 e-WT 仅少数病例表达,实体型的乳头状 RCC 不表达(表 5)。(2) 形态学提示远端肾单位起源肿瘤的诊断免疫组化标志物“远端肾单位样的癌”是一描述性术语,包括少见的集合管癌(collecting duct carcinoma,CDC)和罕见的肾髓质癌,两者组织学有重叠,均为高级别,具有实性、管状或乳头结构,伴有一定程度的间质反应和炎细胞浸润。同时需要鉴别的往往还包括高级别的乳头状 RCC 和发生在肾盂的 UC。据报道 100% 的肾髓质癌有 INI-1 缺失。SMARCB1/INI-1 基因是 SWI/SNF 染色质重塑复合物的成员,BAF47 抗体能够检测该基因的产物。有文献报道 15% 的 CDC 也可有 INI-1 的缺失。近来的研究显示肾髓质癌还可以有干细胞转录因子 OCT4 的过表达,而不见于 CDC。对于肾盂发生的上尿路癌的鉴别,可以应用 GATA3 和 p63。需要注意的是 PAX8 并不适用,其在多达 20% 的上尿路癌中可以阳性。高分子量角蛋白在绝大多数上尿路癌中阳性,在部分 CDC 中阳性,而不表达于肾髓质癌。

表 5 密集小管状肾肿瘤的免疫组化鉴别

标志物	MA	e-WT	实体型乳头状 RCC
CD57	+	- /少数 +	- /少数 +
CK7	-	-	+
AMACR	- /少数 +	-	+
WT-1	+	+	-
CDH17	+	- /个别 +	-
VE1	大多数 +	- /少数 +	-

2 膀胱肿瘤诊断及鉴别诊断的免疫组化标志物

2.1 判断尿路上皮来源的免疫组化标志物 传统的支持尿

路上皮分化的标志物包括 CK7、CK20、高分子量角蛋白 [HMWCK、CK (34βE12)]、p63 和 CK5/6。UC 是少有的几个 CK7 和 CK20 共同表达的肿瘤之一,可见于 50% ~ 62% 的 UC。需要注意的是有多达 14% 的高级别 UC 不表达 CK7 或 CK20。GATA3 是 ISUP 推荐的确定尿路分化的一线标志物。具有清晰的细胞核染色 80% 的高级别 UC 表达。GATA3 在绝大多数 RCC 中为阴性,有报道染色性 RCC 和嗜酸细胞瘤偶尔可阳性。除了尿路上皮外,GATA3 在乳腺癌亦为阳性,在绝大多数其他器官的癌中阴性,在皮肤基底细胞癌、滋养细胞肿瘤、卵黄囊瘤、鳞状细胞癌、间皮瘤、副神经节瘤可以表达。最近发现 GATA3 在具有放射性非典型性的良性前列腺组织中阳性,是一个可能被误诊为 UC 的免疫组化陷阱。S100P(placental) 也是近年来出现的尿路上皮标志物,可见于近 80% 的 UC。uroplakin2 和 uroplakin3 特异性强,但敏感性较低^[8]。

2.2 鉴别反应性不典型增生和尿路上皮原位癌 (carcinoma in situ , CIS) 的免疫组化标志物 尿路上皮 CIS 是一种高级别的平坦型病变,细胞核深染,增大,多形,核分裂象多见。反应性不典型增生常常与膀胱腔内灌注治疗、结石、感染或创伤有关。由于形态学有交叉,两者的鉴别是尿路活检标本病理诊断的一个难点。同时鉴别又非常重要,因为治疗和预后完全不同。联合 CK20、p53 和 CD44 的免疫组化检测对鉴别诊断有一定帮助,但一定要以组织形态学为基础(表 6)。CK20 在反应性病变中仅伞细胞阳性,而大多数 CIS 可见 CK20 呈全层阳性。P53 在反应性病变中为阴性或局限于基底细胞局灶阳性,在多数 CIS 中为不同程度的全层阳性。CD44 是一种细胞黏附蛋白,其在反应性病变表达不等,可以是局灶的基底细胞阳性,也可以是弥漫的全层阳性;但在绝大多数 CIS 中为阴性。Ki-67 作用有限,其在 CIS 和反应性非典型增生的表达有明显重叠。此外,免疫组化对于区分异型增生和 CIS 没有帮助。

表 6 反应性不典型增生和 CIS 的免疫组化鉴别

标志物	正常	反应性不典型增生	CIS
CK20	仅伞细胞阳性	仅伞细胞阳性	全层过表达
p53	-	-	强+
CD44	基底细胞+	所有细胞表达增加	-

2.3 鉴别膀胱腺样病变的免疫组化标志物 膀胱的腺样病变包括 UC 伴腺样分化、少见的膀胱原发性腺癌、继发性腺癌(邻近器官的腺癌直接蔓延累及膀胱和膀胱的转移性腺癌),此外还有一组容易误诊为腺癌或恶性腺样病变的良性病变。继发性腺癌可以来源于结直肠、前列腺、子宫颈和少见情况下的乳腺、胃、肺等。其中膀胱的肠型腺癌与转移性结直肠腺癌的鉴别较为多见。需要注意结直肠/阑尾起源的标志物 CDX2、villin 以及新近应用的 STAB2(special AT-rich sequence-binding protein 2) 都可以在两者中表达,无鉴别意义。β-catenin 的着色定位有一定的价值:81% 的结肠腺癌累及膀胱可以出现 β-catenin 的核染色,而膀胱原发性腺癌为

胞膜和胞质阳性。但此种情况下诊断主要依靠临床病史和影像学发现,免疫组化标记只有辅助意义^[9]。

肾源性腺瘤是一种良性增生性病变,多见于膀胱,其次为尿道、输尿管和肾盂罕见。组织学上呈小管状、囊状、乳头状或小巢状结构,被覆单层立方或矮柱状上皮,细胞异型性轻微,可见鞋钉样细胞,有时胞质透明。间质水肿,有不同程度的炎细胞浸润。肾源性腺瘤需与前列腺腺癌、透明细胞腺癌等鉴别。肾源性腺瘤表达 PAX8 和 PAX2 这两个肾来源的特异性标志物,还表达 P504S,不表达高分子量角蛋白和 p63,当肿瘤累及前列腺尿道部时,需要特别注意这个免疫组化的陷阱。在与透明细胞腺癌的鉴别中,p53 和 Ki-67 有一定帮助。肾源性腺瘤仅有少量局灶 p53 着色,Ki-67 增殖指数低;而透明细胞腺癌 p53 强阳性,Ki-67 增殖指数高。HNF1β(hepatocyte nuclear factor 1β) 是近年来应用于女性生殖道透明细胞腺癌诊断的标志物,细胞核表达,其在膀胱/尿道透明细胞腺癌中亦为阳性,有助于诊断,但不能区分原发还是转移(表 7)。

2.4 鉴别膀胱梭形细胞肿瘤的免疫组化标志物 膀胱的梭形细胞肿瘤包括肉瘤样 UC、炎症性肌纤维母细胞肿瘤(inflammatory myofibroblastic tumor , IMT)、假肉瘤样肌纤维母细胞增生、平滑肌肉瘤和横纹肌肉瘤。在样本有限的情况下,需要进行免疫组化标记联合检测:广谱 CK、p63、高分子量角蛋白、CK5/6、SMA、ALK、desmin 等以辅助诊断(表 8)。

角蛋白在肉瘤样 UC 中的表达可以不同程度降低,需要同时应用几种角蛋白的标记,特别是高分子量角蛋白和 CK5/6,再加上 p63 阳性,则支持肉瘤样 UC 的诊断。IMT 的特征是 SMA 强阳性,经常表达广谱 CK [如 CK (AE1/ AE3)]。ALK-1 蛋白阳性(80% 病例)或 FISH-ALK1 证实存在易位有助于区分 IMT 和其他的梭形细胞肿瘤。平滑肌肉瘤弥漫表达 actin 和(或) desmin,角蛋白通常阴性,也可有局灶或弱阳性,高分子量角蛋白和 p63 阴性。横纹肌肉瘤 myogenin 或 MyOD1 核阳性,组织学特征再结合多发于年轻人,一般不会误诊。

3 前列腺肿瘤诊断和鉴别诊断的免疫组化标志物

3.1 判断前列腺来源的免疫组化标志物 传统的前列腺标志物 PSA 和 PSAP 仍然广泛应用于在转移部位确定前列腺来源,两者敏感性和特异性均较好,但在高级别前列腺癌中阳性率较低。当 PSA 阴性或染色结果不明确时,可以选择另一种前列腺特异性标志物 P501S 来证实前列腺来源。NKX3.1 属于 homeobox 蛋白,在前列腺、睾丸和乳腺中具有特异性的核表达。有研究证实 NKX3.1 标记前列腺癌的敏感性相似于 PSA 和 P501S,识别转移性前列腺癌的敏感性相似于 PSA 和 PSAP。因此 NKX3.1 是近年来推荐应用证实前列腺起源的二线标志物。在不少单位应用的前列腺特异性膜抗原(PSMA) 是一种跨膜的前列腺上皮细胞糖蛋白,在绝大多数前列腺癌及其转移灶中表达。尽管其在高级别前列腺癌中表达的比例高于 PSA,但 PSMA 可以表达于多种肿瘤

表7 膀胱腺样病变的免疫组化鉴别

病变类型	CK7	CK20	CDX2	β-catenin	p63	HMWCK	AMACR	PAX8/PAX2	PSA	HNF1β
UC 伴腺样分化	+	+/-	-	/	+	+	-/+	-	-	-
原发性膀胱腺癌	+/-	+	+	胞膜、胞质+	/	/	+/-	-	-	-
结直肠腺癌	-	+	+	胞核+	/	/	+/-	-	-	/
肾源性腺瘤	+	-	/	/	-	-/+	+	+	-	-
前列腺腺癌	-	-	/	/	-	-	+	-	+	/
透明细胞腺癌	+	+/-	/	/	-	-/+	+	-	-	+

/: 不适用

表8 膀胱梭形细胞肿瘤的免疫组化鉴别

病变类型	SMA	ALK-1	desmin	CK (AE1/AE3)	p63	HMWCK
IMT	+	+/-	+/-	+	-	-
肉瘤样 UC	-/+	-	-	+	+/-	+/-
平滑肌肉瘤	+	-	+	-	-	-
横纹肌肉瘤	+	-/+	+	-	-	-

类型,包括 RCC、胃肠肿瘤和 UC,使得 PSMA 作为前列腺组织特异性标记的用途受限^[10]。需要注意上述的前列腺组织特异性标志物在良性前列腺组织和前列腺癌中均表达,不能用于区分前列腺的良恶性病变。

3.2 辅助诊断前列腺癌的免疫组化标志物

3.2.1 基底细胞标志物 基底细胞的缺失是诊断前列腺癌的一个关键指标。常用的基底细胞标志物有高分子量角蛋白 CK(34βE12) 或 CK5/6 和 p63。前两者为胞质着色,p63 为核着色。需要注意的是并非所有的前列腺穿刺标本均需要进行基底细胞的标记。在组织学可疑为癌的病变中,如果基底细胞缺失则支持前列腺癌的诊断。需要警惕的是基底细胞的缺失亦可见于 5%~23% 的良性病变,包括部分性萎缩、腺病等。因此仅有基底细胞的缺失一个指标不足以诊断前列腺癌,必须以 HE 常规切片为基础,尤其是在穿刺标本中病灶很小的情况下。此外,个别前列腺癌病例会异常表达 p63,偶尔也有少数前列腺癌病例会表达高分子量角蛋白。与前列腺癌标志物联合应用可以提高诊断的准确性。

3.2.2 在前列腺癌中过表达的标志物 由基因 P504S 编码的 AMACR 是有价值的前列腺癌标志物。其过表达可见于 83%~100% 的前列腺癌,不论 Gleason 评分如何。因此 AMACR 阳性和基底细胞阴性可以提高诊断前列腺癌的准确性。但是 AMACR 并不特异,它在高级别前列腺上皮内瘤变 (prostatic intraepithelial neoplasia, PIN) 中阳性,并且在一些相似于癌的良性病变,如部分性萎缩、腺病和肾源性腺瘤中也可阳性。这一点在非典型性腺体数量少的穿刺样本诊断中需要尤为注意。推荐应用由 AMACR、高分子量角蛋白和 p63 联合构成的鸡尾酒套餐,其诊断价值要优于这几个标记的单独应用,并且能最大限度地节省组织。

TMPRSS2-ERG 是前列腺癌中最常见的融合基因,可见于欧美人群约 50% 的前列腺癌,亚洲人群不到 20% 的前列腺癌和约 20% 的高级别 PIN 有表达。ERG 基因融合导致形成截短的 ERG 蛋白产物。商业化的抗 ERG 抗体能够检测到

过表达的 ERG 蛋白,可以作为 ERG 基因重排的替代性标志物,但其敏感性有所降低,在少数良性前列腺腺体中也可呈阳性。因此 ERG 的低敏感性,尤其是在亚洲人群中更低的敏感性,限制了其在前列腺癌诊断中的价值。另一方面,由于其高特异性,如果在穿刺标本中的非典型性小腺体阳性,则支持前列腺癌的诊断。

3.2.3 鉴别差分化的前列腺癌和 UC 的免疫组化标志物

差分化的前列腺癌和 UC 之间的鉴别是泌尿男性生殖系统病理中经常遇到的一个诊断问题,确诊具有重要的临床和治疗意义。应用一组标志物可以有效地对一些疑难病例做出诊断(表 9)。首选的标志物包括 PSA、高分子量角蛋白和 p63。如果一个肿瘤 PSA 强阳性,而后两个标志物阴性,支持为前列腺癌。如果一个肿瘤 PSA 阴性,而后两个标志物阳性,则支持为 UC。CK7 和 CK20 也有一定的价值,前列腺癌通常情况下不表达 CK7 和 CK20,而 UC 通常 CK7 阳性,CK20 大部分阳性。如果这几个标志物结果模棱两可,可以再应用 AR、P501S、NKX3.1 和 GATA3。AR、P501S 和(或) NKX3.1 阳性,而 GATA3 阴性支持为前列腺癌;GATA3 阳性,而 AR、P501 和(或) NKX3.1 阴性则诊断差分化的 UC。

表9 低分化的前列腺癌和 UC 的免疫组化鉴别

病变类型	PSA	PSMA	NKX3.1	GATA3	HMWCK	p63	S100P	AR
前列腺腺癌	+	+	+	-	-	-	-	+
UC	-	-	-	+	+	+	+	-

3.2.4 鉴别前列腺小细胞癌和高级别的前列腺癌的免疫组化标志物 前列腺小细胞癌罕见,仅占前列腺恶性肿瘤的 0.5%~1%。典型的小细胞癌,可以单凭形态学做出诊断。但有时形态学不典型,难以在 HE 上与高级别的前列腺癌鉴别,需要进行免疫组化标记以确诊,具有重要的治疗和预后意义。前列腺小细胞癌通常会表达常用的神经内分泌标记: CgA、Syn 和 CD56。90% 的小细胞癌中会有至少一个上述标志物阳性。前列腺标志物如 PSA、P501S 在 17%~25% 的小细胞癌中阳性,通常为局灶阳性。如果 PSA 或 PSAP 强阳性,则倾向高级别前列腺癌而非小细胞癌。此外近 1/3 的前列腺小细胞癌可以表达 p63 和高分子量角蛋白,两者在前列腺癌中基本为阴性。

原发性小细胞癌和转移性小细胞癌,特别是来自膀胱或肺的小细胞癌的鉴别中免疫组化作用很有限。TTF1 的表达可见于 50% 以上的前列腺小细胞癌。TMPRSS2-ERG 的融合

基因可见于约 50% 的前列腺小细胞癌,进行相关的免疫组化或 FISH 检测,阳性则支持前列腺原发性小细胞癌。联系临床病史也很重要。

4 睾丸肿瘤诊断和鉴别诊断的免疫组化标志物

睾丸肿瘤少见,仅占人类恶性肿瘤的 1%,但在年轻男性和男孩中易发。大部分睾丸肿瘤可以在 HE 上做出诊断。但当形态不典型时,免疫组化可起到重要作用。并且评价混合性生殖细胞肿瘤(germ cell tumor, GCT) 中的不同成分时,免疫组化非常有帮助。睾丸肿瘤分为 GCT、性索间质肿瘤、混合性生殖细胞性索间质肿瘤和杂类肿瘤。

4.1 睾丸 GCT 免疫组化标志物 SALL4 (spalt-like transcription factor 4) 是一种参与胚胎发育的锌指转录因子,是目前 GCT 最敏感的标志物,在绝大多数 GCT 细胞胞核阳性。OCT4 (也称为 OCT3/4) 是一种对于胚胎干细胞多潜能的维持至关重要的核蛋白。其在精原细胞瘤和胚胎性癌中阳性,在生殖细胞原位肿瘤(germ cell neoplasia in situ, GCNIS) 中亦为阳性,而在卵黄囊瘤、精母细胞性肿瘤和绒毛膜上皮癌中阴性。如果是鉴别 GCNIS 和非肿瘤性的不典型的生殖细胞,推荐应用 OCT4 而并非 SALL4,因为 SALL4 可能在两者中均表达。卵黄囊瘤具有复杂和一些少见的生长模式,可能与其他的 GCT 相混淆。AFP 和 Glypican3 (GPC3) 是卵黄囊瘤特征性的免疫标记。GPC3 较 AFP 更为敏感,它是一个胚胎组织产生的胎儿蛋白,可以调节细胞的生长和增殖能力,在肝细胞癌、儿童的肝母细胞瘤和肾母细胞瘤中呈阳性。包括 CK(AE1/AE3)、CD30 和 CD117 在内的一组标志物可以有效地将精原细胞瘤和胚胎性癌鉴别。CD30 在胚胎性癌可为局灶阳性。GATA3 可以有效地在 GCT 中识别出合体滋养细胞的成分。GATA3 在部分卵黄囊瘤中可以阳性,而在精原细胞瘤和胚胎性癌中为阴性。GATA3 和 β-HCG 的阳性支持绒毛膜上皮癌的诊断^[11]。GATA3 在罕见的睾丸胎盘部位滋养细胞肿瘤和上皮样滋养细胞肿瘤中亦为阳性(表 10)。

4.2 鉴别 GCT 与性索间质肿瘤的免疫组化标志物 大多数性索间质肿瘤能够在常规 HE 切片上做出诊断,但有时性索间质肿瘤会与 GCT 有形态学交叉,这时需要行免疫组化检测。例如当 Sertoli 细胞瘤呈弥漫型结构,具有透明的胞质和突出的核仁,并伴有淋巴细胞浸润时,会非常类似于精原细胞瘤;反之具有明显小管状结构的精原细胞瘤会与性索间质肿瘤混淆。呈条索状和管状分布的 Sertoli 细胞瘤会与类癌混淆。具有显著囊腔的 Leydig 细胞瘤类似于卵黄囊瘤;以及具有陷入的生殖细胞的性索间质肿瘤会考虑到混合性生殖细胞-性索间质肿瘤的诊断。

SALL4 在性索间质肿瘤中阴性。对于睾丸的性索间质肿瘤,传统的标志物是 α-inhibin 和 calretinin。需要注意的是大多数 Leydig 细胞瘤会表达这两种标记,但仅有一小部分 Sertoli 细胞瘤有两者的表达。因此需要一些新型标志物来支持诊断,近年来推荐应用的 SF1 (类固醇生成因子 steroidogenic factor 1) 又称作肾上腺 4 结合蛋白(adrenal-4 binding

表 10 睾丸 GCT 的免疫组化鉴别

标志物	GCNIS	精原细胞瘤	胚胎性癌	卵黄囊瘤	绒毛膜上皮癌	畸胎瘤	精母细胞性肿瘤
SALL4	+	+	+	+	+	+/-	+
Oct4	+	+	+	-	-	-/+	-
CD117	+	+	-/+	-/+	-	-	-/+
CD30	-	-	+	-	-	-	-
Glypican3	-	-	-/+	+	+/-	-	-
D2-40	-	弥漫+	-/局灶+	-	-	-	-
CK(AE1/AE3)	-	-/个别局灶+	-/+	+	+	+	-
β-HCG	-	-	-	-	+	-	-
AFP	-	-	-	+	-/+	-	-
GATA3	-	-	-	+/-	+	-/+	-

畸胎瘤的免疫标记结果取决于其含有的成分; GCNIS: 生殖细胞原位肿瘤

protein) 是调控性腺和肾上腺类固醇生成的核受体转录因子,表达于睾丸、卵巢、肾上腺、垂体和胎盘。其在性索间质肿瘤中表达的敏感性和特异性都较高,而不表达于 GCT。β-catenin 在 63% 的 Sertoli 细胞瘤中会有核阳性,对鉴别诊断有一定的帮助(表 11)。

表 11 睾丸 GCT 和性索间质肿瘤的免疫组化鉴别表

标志物	GCT	性索间质肿瘤
SALL4	+	-
Oct4	+	-
Glypican-3	+	-
α-inhibin, calretinin	-	+/-
SF-1	-	+

GCT 中可以有散在的合体滋养层细胞,可 β-HCG、Glypican3 和 GATA3 阳性

4.3 鉴别 GCT 与大细胞淋巴瘤的免疫组化标志物 睾丸原发性淋巴瘤占非霍奇金淋巴瘤的 1%~2%,占所有睾丸肿瘤的 1%~9%。弥漫大 B 细胞淋巴瘤是睾丸淋巴瘤中最常见的类型。应用由 SALL4、CD45、CD20 和 CD30 组成的标志物可以有效地将 GCT 与大细胞淋巴瘤相鉴别。特别要注意的可能陷阱是 SALL4 可以在髓性白血病、淋巴瘤细胞性淋巴瘤和间变性大 B 细胞淋巴瘤中出现阳性。可以补充应用 OCT4、CK(AE1/AE3) 等标志物来确定诊断。

近年来敏感性和特异性更好的标志物不断出现,对于疑难病例的诊断,免疫组化检测已成为必备工具。部分泌尿男性生殖系统肿瘤的准确组织学分型依赖于免疫组化,仍需强调的是免疫组化的应用一定要以形态学为基础,结合患者的临床信息,有一定范围内的鉴别诊断考虑时再应用。希望本文会对病理医师的日常工作有帮助,同时也应该认识到,即使在完备的免疫组化标记下,仍有少部分肿瘤难以确诊或分型,需要依靠分子生物学和基因学的技术确诊或精准分型。随着分子生物学在泌尿男性生殖系统肿瘤中的飞速进展,我们也相信会有更多有价值的免疫组化标志物出现并得到应用。

参考文献:

- [1] Moch H, Humphrey P A, Ulbright T M, *et al.* WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organ [M]. Lyon: IARC Press, 2016: 18 - 235.
- [2] Wilkerson M L, Lin F, Liu H, *et al.* The application of immunohistochemical biomarkers in urologic surgical pathology [J]. Arch Pathol Lab Med, 2014, 138(12): 1643 - 1665.
- [3] Amin M B, Epstein J I, Ulbright T M, *et al.* Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in urologic pathology: report from the international society of urological pathology consensus conference [J]. Am J Surg Pathol, 2014, 38(8): 1017 - 1022.
- [4] Srigley J R, Delahunt B, Eble J N, *et al.* The international society of urological pathology (ISUP) vancouver classification of renal neoplasia [J]. Am J Surg Pathol, 2013, 37(10): 1469 - 1489.
- [5] 饶秋, 夏秋媛, 周晓军, 等. 2016版WHO肾脏肿瘤新分类解读 [J]. 中华病理学杂志, 2016, 45(7): 435 - 441.
- [6] 赵明, 何向蕾, 张大宏, 等. WHO(2016)泌尿男性生殖系统肿瘤组织学分类解读 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(2): 119 - 124.
- [7] Reuter V E, Argani P, Zhou M, *et al.* Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the kidney tumors: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference [J]. Am J Surg Pathol, 2014, 38(8): e35 - e49.
- [8] Xiao X, Hu R, Deng F M, *et al.* Practical applications of immunohistochemistry in the diagnosis of genitourinary tumors [J]. Arch Pathol Lab Med, 2017, 141(9): 1181 - 1194.
- [9] Williamson S R, Lopez-Beltran A, Montironi R, *et al.* Glandular lesions of the urinary bladder: clinical significance and differential diagnosis [J]. Histopathology, 2011, 58(6): 811 - 834.
- [10] Epstein J I, Egevad L, Humphrey P A, *et al.* Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference [J]. Am J Surg Pathol, 2014, 38(8): e6 - e19.
- [11] Ulbright T M, Tickoo S K, Berney D M, *et al.* Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in testicular tumors: report from the International Society of Urological Pathology consensus conference [J]. Am J Surg Pathol, 2014, 38(8): e50 - e59.

本版共识专家组成员(按姓氏拼音为序): 曹登峰, 美国圣路易斯华盛顿大学医学院病理学和免疫学系; 曹云, 中山大学附属肿瘤医院病理科; 陈虹, 福建医科大学附属第一医院病理科; 陈锐, 四川大学华西医院病理科; 成志强, 深圳市人民医院病理科; 程亮, 美国印第安纳大学医学院病理系; 崔晓宾, 石河子大学第一附属医院病理科; 段光杰, 陆军军医大学第一附属医院病理科; 甘华磊, 复旦大学附属肿瘤医院病理科; 顾永耀, 广西医科大学第一附属医院病理科; 郭爱桃, 中国人民解放军总医院病理科; 郭艳萍, 河南省人民医院病理科; 韩博, 山东大学齐鲁医院病理科; 贺慧颖, 北京大学医学部病理系/北京大学第三医院病理科; 侯君, 复旦大学附属中山医院病理科; 李春辉, 承德医学院附属医院病理科; 李惠翔, 郑州大学第一附属医院病理科; 李静, 空军军医大学西京医院病理科; 李珀, 贵阳医科大学附属医院病理科; 李巧新, 新疆医科大学第一附属医院病理科; 李玉军, 青岛大学附属医院病理科; 刘强, 上海交通大学附属仁济医院病理科; 苗原, 中国医科大学附属第一医院病理科; 潘国庆, 昆明医科大学第一附属医院病理科; 饶秋, 中国人民解放军南京总医院病理科; 滕梁红, 首都医科大学宣武医院病理科; 滕晓东, 浙江大学医学院附属第一医院病理科; 田保玲, 中国医科大学附属盛京医院病理科; 涂露霞, 南昌大学第一附属医院病理科; 万婕, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理科; 汪必成, 武汉大学中南医院病理科; 王爱香, 天津医科大学第二医院/天津市泌尿外科研究所病理室; 王晨, 山西医科大学第二医院病理科; 王功伟, 北京大学人民医院病理科; 王冠男, 郑州大学第一附属医院病理科; 王慧萍, 浙江大学医学院附属第一医院病理科; 王素英, 宁波市临床病理诊断中心; 王娅南, 河北大学附属医院病理科; 王英炜, 哈尔滨医科大学附属第一医院病理科; 吴春林, 福建医科大学附属第二医院病理科; 吴丽华, 哈尔滨医科大学附属第二医院病理科; 夏秋媛, 中国人民解放军南京总医院病理科; 肖立, 复旦大学附属华东医院病理科; 肖芹, 江苏省苏北人民医院病理科; 肖雨, 北京协和医院病理科; 徐海霞, 海口市人民医院病理科; 徐晓, 九江学院临床医学院附属医院病理科; 许传杰, 吉林大学第二医院病理科; 叶新青, 广西医科大学附属肿瘤医院病理科; 尹红玲, 中南大学湘雅医院病理科; 尹玉, 安徽医科大学病理教研室; 于文娟, 青岛大学附属医院病理科; 余英豪, 中国人民解放军福州总医院病理科; 余永伟, 第二军医大学长海医院病理科; 岳君秋, 湖北省肿瘤医院病理科; 张伟, 解放军第401医院病理科; 张志勇, 河北省唐山市工人医院病理科; 章宜芬, 江苏省中医院病理科; 赵焕芬, 河北省人民医院病理科; 赵明, 浙江省人民医院病理科; 钟国平, 浙江省宁波市鄞州人民医院病理科; 钟山, 厦门大学附属第一医院病理科; 周桥, 四川大学华西医院病理科; 周晓军, 中国人民解放军南京总医院病理科。

本版共识执笔人: 贺慧颖 (E-mail: huiyinghe@bjmu.edu.cn)